中華農業研究 (Jour. Agric. Res. China) 49(1): 35～41 (2000)

乳酸發酵甜瓜汁之研究[1]

楊淑惠[2] 簡伯容[3]

摘要：台灣各季節的熱帶水果種類豐富，採收後期的水果因甜度不高，價格偏低，通常是棄置田間不收採。本試驗以乳酸菌發酵方式製造甜瓜發酵果汁，期能提高甜瓜利用率，增加蔬果汁之多樣性。本次實驗所用的菌株*Lactobacillus brevis*和*L. mali*，經活化培養後，以單一或等體積混合兩株菌，接入甜瓜汁於30℃培養96小時，實驗結果顯示，*L. brevis*在發酵初期生長較快，*L. mali*則是在中期生長較旺盛。不論是接入單一菌株或混合菌株，發酵期間甜瓜汁中的葡萄糖含量均呈緩緩下降趨勢，消耗量約在45.5-51.3 %左右。*L. brevis*對蔗糖的利用極爲有限，至發酵終止蔗糖含量只減少0.1%(wt/v)；接入*L. mali*菌株者，截至發酵終止，其蔗糖含量由4.63 %(wt/v)顯著減少爲0.05 %(wt/v)。經發酵後所產生的有機酸類包括乳酸及醋酸，其產量隨發酵時間延長而累積上升，接入*L. brevis*菌株的甜瓜汁，其乳酸產量(2.89 %(wt/v))明顯高於接入*L. mali*菌株者(1.47 %(wt/v))；而醋酸產量則是接入*L. mali*菌株者的產量(1.33 %(wt/v))遠高於接入*L. brevis*菌株者(0.70 %(wt/v))。嗜好品評試驗結果顯示，甜瓜汁經混合接菌發酵的發酵果汁，再加入新鮮甜瓜汁並將糖度調至12 °brix後，果汁接受度較高。

關鍵詞：甜瓜汁、發酵、接菌、乳酸

前　　言

我國各時節的熱帶作物種類豐富，一般消者對水果甜度要求高。這使得品質(甜度)較低或採收後期的水果，價格不高，甚至因甜度不高，採收不敷成本而棄置，十分可惜。乳酸菌發酵食品，因可增加食品的營養成份，提供特殊芳香味，並具有助消化及整胃之功，近年來漸爲消費者所重視。陳氏等[7]以胡蘿蔔汁爲原料，製造乳酸發酵胡蘿蔔汁，其成分變化，糖類含量減少；除乳酸外的有機酸含量均下降；游離胺基酸總量增加；乳酸胡蘿蔔汁，經加糖調至8 °Brix後，接受性佳。黃氏等[5]以香蕉爲發酵基質，研究顯示基質之乳酸、琥珀酸含量增加；胺基酸含量亦增加，其中白胺酸(leucine)及麩胺酸(glutamic acid)增加最多。以乳酸菌發酵之蓮霧汁，可以增加果汁的甘味、鮮味，並能增強蓮霧之芳香味，乳酸含量0.23%，胺基酸總含量較高，多了甘胺酸及丙胺酸[9]。添加醋酸鈣(calcium acetate)可當作pH buffer，增加細胞數、延長細胞生存力，進而增加發酵率[12]。於soy molasses中添加0.5 % yeast extract可縮短發酵時間,並增加30%的乳酸產量[13]。Tseng等人[15]於酪梨果汁中加入脫脂奶粉及葡萄糖等，經接入乳酸菌於37℃、發酵24 hr.，可獲得高產量的可滴定酸量。本試驗擬以乳酸菌發酵方式製造甜瓜發酵果汁，並探討製備之方法及發酵條件，期提高甜瓜利用率，增加蔬果汁之多樣性。

1.行政院農業委員會農業試驗所　研究報告第2011號。

2.本所鳳山熱帶園藝試驗分所助理。臺灣省　高雄縣　鳳山市。

3.台灣大學園藝學研究所研究生。台北市。

材料與方法

一、實驗材料

(一)菌種

乳酸菌*Lactobacillus brevis* CCRC 10361及*L. mali* CCRC 14057均購自菌種中心

(二)發酵基質

採收後期的省產甜瓜(*Cucumis melo* L.)，經剖半後直接以粗細過濾機打汁、過濾，收集之汁液分裝冷凍備用，使用前先解凍，以121℃殺菌15分鐘，爲乳酸菌發酵培養基。

(三)藥品

1. 乳酸菌培養基MRS broth、yeast extract、agar等購自Difco 公司。
2. 高效液相層析之標準品，購自Sigma、Merck公司；一般化學藥品購自Merck公司。

二、試驗方法

(一)菌種活化[4]

乳酸菌菌株以MRS broth爲活化培養基，於30℃進行18小時活化培養，經二次更新培養，進行短期4℃保存處理；第三次更新培養時，以甜瓜汁爲培養基質，培養16-18小時後，爲接種菌 酛。

(二)甜瓜汁發酵

經殺菌之甜瓜汁，接入4%(V/V)菌酛，於30℃恆溫箱中發酵96小時。發酵期間每八小時取樣，分析果汁成分變化。發酵完成時，以90℃加熱三分鐘，停止發酵。

(三)發酵基質成分分析

1.pH值：取適量樣品於室溫，以pH meter測定。

2.可滴定酸測定[1]：取5g sample加10倍去離子水，以0.1 N氫氧化鈉滴定至pH 8.1。除未發酵者外，以乳酸爲計算標準。

3.乳酸菌數測定[6,4]：以V-8 medium爲培養基，添加200 ppm bromocresol purple，於30℃下培養48小時，記錄有黃色環之菌落。

4.有機酸分析[10,14]：甜瓜汁，經離心後以 0.45 um薄膜濾過處理後，以Varian 2550 高效液相層析儀分析，分離管：Allteck Econosil C18, 分離溫度：室溫，UV偵測器：220nm，流動相：0.1M KH_2PO_4，pH 2.5，流速0.6 ml/.min.。

5.糖類分析[10,14]：樣品處理同上，分離管：BIO-RAD Aminex-HPX 87C, 80℃，RI偵測器，流動相：水，流速0.6 ml/.min.。

6.粗蛋白質測定[2]：取適量樣品於消化管中，加入催化劑及濃硫酸於氮分解爐中加熱分解，冷卻後蒸餾，蒸餾液以 0.1N硫酸滴定，每ml 0.1N硫酸＝1.4006 mg之氮，粗蛋白質含量=N×6.25。

7.嗜好性品評[8]：成品經調製後，由20位試驗所人員依其喜好程度，以九分評分法，記錄並描述其品評結果。九分爲非常喜好，一分爲非常不能接受。

結果與討論

一、不同乳酸菌株之生長發酵情形

本次實驗所用的菌株*L. brevis*及*L. mali*，經活化培養後，均生長良好，由單株及混合培養結果顯示，乳酸菌發酵時接入*L. brevis*的菌液濃度爲10^6 CFU/ml，發酵8小時後的菌數爲10^{10-11} CFU/ml，培養16小時至48小時期間的菌數則維持在10^{11-12} CFU/ml左右，隨後菌數逐漸下降，發酵96小時後菌數下降爲10^{6-7} CFU/ml 。乳酸菌L. mali發酵時接入的菌液濃度爲10^6 CFU/ml，*L. mali*的生長較慢，發酵8小時

後的菌數爲10^9 CFU/ml，培養32小時至56小時期間的菌數則維持在$10^{11\text{-}12}$ CFU/ml左右，隨後菌數逐漸下降，至發酵96小時，菌數下降爲10^7 CFU/ml。等體積混合兩株菌，培養結果則爲兩株菌各自生長，初期爲*L. brevis*生長較快，後期則是*L. mali*的生長較旺盛(如圖1)。

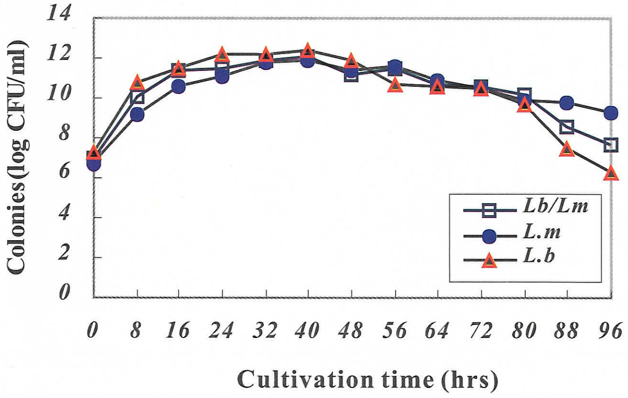

圖1.發酵期間不同乳酸菌株生長情形。

Fig.1.Growth of different lactic bacteria during fermentation.

Lm = *L. mali*, Lb = *L. brevis*

二、 發酵期間糖類利用情形

未發酵甜瓜汁的總糖量爲10.4 %(wt/v)，其蔗糖含量約4.38-4.63 %(wt/v)；葡萄糖含量爲3.1-3.59 %(wt/v)；果糖含量約2.18-2.46 %(wt/v)。經接入乳酸菌發酵，不論是接入單一菌株或混合菌株，甜瓜汁中的葡萄糖含量均呈緩緩下降趨勢，以*L. brevis*菌株發酵的甜瓜汁，至發酵終止，葡萄糖含量由3.59 %(wt/v)明顯降爲1.81 %(wt/v)，葡萄糖總消耗量約49.6 %左右，其消耗情形與生長趨勢有相關性，發酵56小時後的消耗量較少。接入*L. mali*菌株發酵的甜瓜汁，在發酵第八小時，葡萄糖含量先有較大幅度上升，增加1.02 g左右，隨後則爲下降趨勢，發酵終止時的含量爲1.51 %(wt/v)，含量變化如圖2所示，

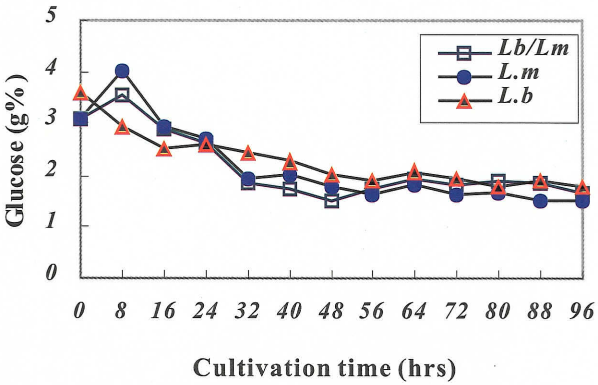

圖2.發酵期間甜瓜汁之葡萄糖含量變化情形。

Fig.2.Change of glucose content of melon juice during fermentation.

Lm = *L. mali*, Lb = *L. brevis*

葡萄糖總消耗量約51.3 %左右。混合接菌的葡萄糖利用情形與*L. mali*菌株相當類似，總消耗量約45.5 %左右。依陳氏等[7]及Chen等[10]研究顯示，乳酸菌對葡萄糖的總消耗量約在26-72%左右，因菌種不同差異頗大。

發酵期間，*L. brevis*、*L. mali*菌株對蔗糖的利用有很明顯的差異，*L. brevis* 菌株對蔗糖的利用極為有限，至發酵終止，甜瓜汁的蔗糖含量只減少0.1%；而接入*L. mali*菌株的甜瓜汁，其蔗糖含量，在發酵初期會由4.63 %(wt/v)大幅增加為6.23 %(wt/v)，隨後逐漸減少至0.05 %(wt/v)左右，幾乎用盡絕大部分的蔗糖。混合接菌的蔗糖消耗情形，前段與L. mali菌株相似，後段則與*L. brevis*菌株較類似，如圖3所示。分析甜瓜汁培養基中果糖含量，結果顯示，不論是接入單一菌株*L. brevis*或*L. mali*或混合接入，培養基質中的果糖含量在發酵初期(8-24小時)均呈逐漸上升趨勢，果糖含量在2.97-3.10 %(wt/v)左右，隨後含量微幅上下，逐漸降為2.81- 2.93 %(wt/v)左右。

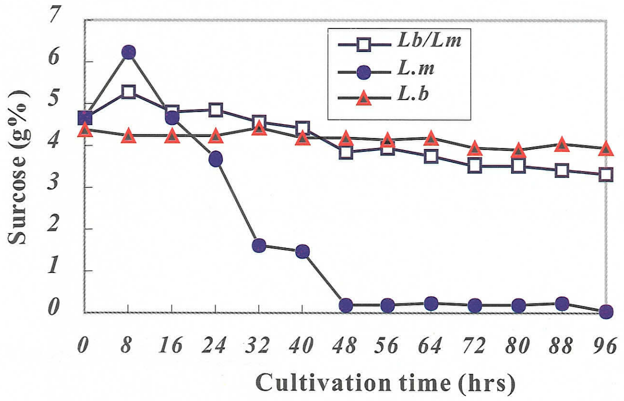

圖3.發酵期間甜瓜汁之蔗糖含量變化情形。

Fig.3. Change of sucrose content of melon juice during fermentation.

Lm = *L. mali* , Lb = *L. brevis*

試驗顯示以*L. mali*菌株發酵的甜瓜汁培養基，其葡萄糖及蔗糖含量在發酵初期均有明顯增加，甜瓜汁中含有高量的果膠，由最初甜瓜發酵液為塊狀懸浮變成濃稠液，最後變成細碎懸浮發酵液的情形，推測*L. mali*於生長期間可能產生多種果膠分解酶，將甜瓜汁中的果膠大量分解所致；由報告[7,3,10,11]顯示，果糖可經由*L. brevis*菌的作用而產生甘露糖醇(mannitol)，惟本次試驗分析中並未測得該成分，是否因培養基質或菌種(species)不同而異，需繼續進一步探討。

三、發酵期間其他成分及有機酸含量之變化

甜瓜汁的粗蛋白質含量，不論是接入單一或混合菌株，其發酵前後差異不大，約在1.15-1.27 %左右。未發酵甜瓜汁的可滴定酸度約0.19 %(g/g)，酸鹼值約在pH 5.82左右，經乳酸發酵後甜瓜汁的酸鹼值，會由pH 5.8快速下降至pH 3.7-4.0左右，接入*L. brevis*菌株的甜瓜汁，經發酵8 hr.後，其酸鹼值明顯由pH 5.84下降為pH4.43，發酵終止時的酸鹼值為pH 3.7；接入*L. mali*菌株的甜瓜汁，則在發酵16 hr.後，由pH 5.83明顯地下降為pH4.42，發酵終止時的酸鹼值為pH 4.1。

接入*L. brevis*菌株的甜瓜汁，經發酵8 hr.後，其可滴定酸含量明顯增加了0.6 g，隨後的增加幅度較

小，發酵72hr.後甜瓜汁的可滴定酸量不再上升，發酵終止時的含量爲1.93 %(g/g)；接入*L. mali*菌株的甜瓜汁，在發酵至第八至第十六小時期間，其可滴定酸含量亦由0.33 %(g/g)增加爲0.8 %(g/g)左右，隨後的增加幅度爲0.2 g上下。在發酵過程中*L. mali*菌株的可滴定酸含量，均明顯低於以L. brevis菌株發酵者，但經發酵88小時含量可到達1.84 %(g/g)，如圖4所示。

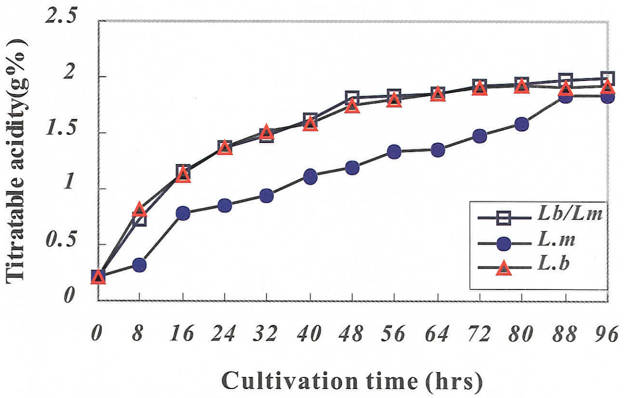

圖4.發酵期間甜瓜汁之可滴定酸含量變化情形。

Fig.4.Change of titratable acidity content of melon juice during fermentation.

Lm = *L. mali* , Lb = *L. brevis*

新鮮甜瓜汁中的主要有機酸包括檸檬酸(citric acid)、D-galacturonic acid、蘋果酸(malic acid)、抗壞血酸(ascorbic acid)及少量草酸與丙酮酸等等，殺菌後甜瓜汁的D-galacturonic acid含量爲0.116 %(wt/v)，蘋果酸含量爲0.36 %(wt/v)，丙酮酸(pyruvic acid)含量爲0.028 %(wt/v)。經乳酸發酵後，分析各發酵階段果汁中的有機酸含量，接入L. brevis菌株者，丙酮酸及蘋果酸含量微幅下降，D-galacturonic acid含量則明顯由0.116 %(wt/v)大幅下降爲0.037 %(wt/v)，檸檬酸含量呈微幅上揚，草酸含量無明顯變化；接入*L. mali*菌株者，檸檬酸及蘋果酸含量呈微幅下降，D-galacturonic acid含量由0.116 %(wt/v)明顯下降至0.065 %(wt/v)，丙酮酸、草酸含量則無明顯變化，如表1所示。一般乳酸菌可將蘋果酸經由malolactic enzyme 之作用，大量將蘋果酸轉化成乳酸[3]，但由結果顯示本次實驗所用的乳酸菌株對蘋果酸的利用情形並不特別顯著，與Chen等人[10]對*L. brevis* ATCC14869菌的研究相似。

經乳酸發酵後所產生的有機酸類包括乳酸(lactic acid)及醋酸(acetic acid)，其產量隨發酵時間延長而累積上升，接入*L. brevis*菌株的甜瓜汁，其乳酸產量(2.89 %(wt/v))明顯高於接入*L. mali*菌株者(1.47 %(wt/v))；而醋酸產量則是接入*L. mali*菌株者的產量(1.33 %(wt/v))遠高於接入*L. brevis*菌株者(0.72 %(wt/v))，如表1所示。實驗顯示，發酵液中乳酸及醋酸含量的變化，與發酵期間乳酸菌的生長曲線有很明顯的相關性，故就本實驗所用之原料及乳酸菌種而言，發酵時間只需二至三天左右。

四、嗜好性品評

甜瓜汁經96小時發酵後，以90℃水浴加熱五分鐘，離心過濾，可得淡褐至紅褐色之澄清發酵液，甜瓜發酵液與新鮮甜瓜汁以1比2比例混合，並將糖度調至12 °Brix。調製後的發酵果汁pH約在3.8-4.0之間，經*L. mali*發酵的果汁，其口感比較濃厚，風味較刺激，接受性較低；接入*L. brevis*發酵的果汁，口感比較單薄，但溫潤爽口；混合接菌的發酵果汁，口感、風味均比較滑潤、濃郁，接受性最高。惟本

表1. 甜瓜汁發酵前後之有機酸含量之變化

Table 1. Change of organic acid contents of melon juice before and after lactic acid fermentation

Organic acid %(wt/v)	Unfermented melon juice	Melon juice fermented with *L. brevis*	Melon juice fermented with *L. mali*	Melon juice fermented with *L. brevis* and *L. mali*
Citric acid	0.22	0.33	0.19	0.21
Galacturonic acid	0.116	0.037	0.065	0.069
Malic acid	0.36	0.32	0.31	0.27
Oxalic acid	0.05	0.04	0.05	0.05
Pyruvic acid	0.037	0.028	0.035	0.032
Lactic acid	-	2.89	1.47	2.89
Acetic acid	-	0.72	1.33	0.79

本次試驗所用的菌株均未能產生香氣物質，使得產品的酸味顯得特別濃烈，在調味時需提高糖度來遮蔽強烈的酸味。選用其他乳酸菌株，或以不同種類的果汁為培養基質，是值得進一步研究探討的改進方法。

引用文獻

1. 水果及蔬菜汁飲料檢驗法。中國國家標準。總號12570；類號N6216。
2. 食品中粗蛋白質之檢驗法。中國國家標準。總號5035；類號N6116。
3. 王吉彬。1995。酸菜醃漬過程中之微生物。食品工業月刊 27(9)16-23。
4. 黃忠村。1992。乳酸菌於芥菜汁中發酵特性之探討。國立中興大學食品科學研究所碩士論文 pp.110。
5. 黃國榮、周正俊。1986。發酵香蕉飲料之研究-2.發酵香蕉基質之安定性、成份變化以及發酵飲料之製備。中國農業化學會誌 24(1):31-36。
6. 黃國榮。1988。乳酸菌之分類及鑑定。製酒科技專論彙編 10:49-57。
7. 陳雪娥、陳瑜芬。1992。乳酸發酵胡蘿蔔汁之製造。食品科學 19(4):476-485。
8. 彭秋妹、王家仁。1991。食品官能檢查手冊。食品工業發展研究所 台灣 新竹市。
9. 鄧德豊、謝寶全、黃桂香。1986。蓮霧加工之研究-蓮霧未加菌與加菌發酵汁之研製。食品科學 13(3,4):130-142。
10. Chen, K.H., R.F. Mcfeeters, and H.P. Fleming. 1983. Fermentation characteristics of heterolactic acid bacteria in green bean juice. J. Food Science 48:962-966.
11. Chen, K.H., R.F. Mcfeeters, and H.P. Fleming. 1983. Complete heterolactic acid fermentation of green beans by *Lactobacillus cellobiosis*. J. Food Science 48:967-971.
12. Costilow, R.N., and P. Gerhardt 1983. Dialysis pure-culture process for lactic acid fermentation of vegetables. J. Food Science 48:1632-1636.
13. McFEETERS, R.F., R.L. Thompson, and H.P. Fleming. 1984. Liquid chromatographic analysis of sugars, acids, and ethanol in lactic acid vegetable fermentations. J. Assoc. Off. Anal. Chem. 67(4):710-714.
14. Montelongo, J.L., B.M. Chassy, and J.D. Mccord. 1993. *Lactobacillus salivarius* for conversion of soy molasses into lactic acid. J. Food Science 58(4):863-866.
15. Teng, Y.K., T.R. Chen, and S.H. Jaw. 1998. Studies on preparation of avocado lactic beverage. Handbook of Chinese Institute of Food Science and Technology 28th p.223.

Studies on Lactic Acid Fermentation of Melon (*Cucumis melo* L.) Juice [1]

Shu-Hui Yang[2] and Po-Jung Chien[3]

Summary

In Taiwan, the melon was usually discarded during the later harvesting period, on account of lower sweet. The purpose of this research is using tropical fruit to produce a new lactic acid fermented beverage. Melon (*Cucumis melo* L.) juice was fermented with pure culture of *Lactobacillu brevis* or *L. mali* or both at 30°C for 96 hours. During the fermentation period *L. brevis* showed growing rapidly in the earlier time, and *L. mali* grew lively in the middle stage. Analysis results indicated that, glucose content decreased 45.5-51.3 % in the fermented melon juice, which was inoculated with single-culture or mix-culture. Sucrose content decreased 0.1 %(wt/v) in the fermented melon juice by *L. brevis*, and decreased from 4.63 %(wt/v) to 0.05 %(wt/v) by *L. mali*. The lactic acid content (2.89 %(wt/v)) fermented by *L. brevis* in melon juice was higher than that by *L. mali* (1.47 %(wt/v)) significantly. On the other hand, acetic acid content in the fermented melon juice by *L. mali* (1.33 %(wt/v)) was higher than that by L. brevis (0.70 %(wt/v)). Results of preference test indicated that the melon juice fermented with mix-culture, then prepared with fresh melon juice and adding sucrose to 12 obrix could get the best acceptability.

Key words：Melon juice, Fermentation, Pure-culture, Lactic acid.

---

1. Contribution No. 2011 from Taiwan Agricultural Research Institute, Council of Agriculture.
2. Assistant for Fengshan Tropical Horticultural Experiment Station, TARI, Fengshan, Kaohsiung, Taiwan, ROC.
3.Graduate student, Department of Horticulture, National Taiwan University, Taipei, Taiwan, ROC.